

Efek Antiinflamasi Beberapa Tumbuhan Umbelliferae

Antiinflammatory Effect of Several Umbelliferae Species

SUWJIYO PRAMONO

Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Sekip Utara, Yogyakarta 55281

Tel./Fax. +62-274-543120, E-mail: suwjiyo_pramono@yahoo.com

Diterima 12 Februari 2004/Disetujui 6 Oktober 2004

A screening for antiinflammatory effects was performed on several Indonesian Umbelliferae plants based on the contents of saponins and flavonoids. They were compared with *Bupleurum falcatum* L. as an introduced antiinflammatory plant. Roots and grains of each plant were collected, dried, and extracted with ethanol. The ethanolic extracts were then analyzed for their saponin and flavonoid contents by gravimetric and UV-vis spectrophotometric method. Antiinflammatory activity test was conducted on carragenin induced rat paw oedema. The results showed that the highest contents of saponin and flavonoid were found in the grains of *Apium graveolens* L. and showed antiinflammatory effect that was equivalent to that of the root of *B. falcatum*.

PENDAHULUAN

Bupleurum falcatum L. (famili Umbelliferae) merupakan tanaman introduksi yang berasal dari daerah subtropik, sekarang mulai dibudidayakan di Indonesia. Tanaman ini memiliki kandungan saponin dan flavonoid. Saponin merupakan turunan oleanan yaitu saikosaponin yang dilaporkan memiliki daya antiinflamasi kuat dan dapat memperbaiki fungsi hati (Abe 1980).

Salah satu perusahaan obat tradisional di Jawa Tengah menggunakan akar tanaman tersebut sebagai bahan baku dalam berbagai produk antiinflamasi. Pada tahun 2001 perusahaan tersebut sulit memperoleh bahan baku *B. falcatum* karena pemasok mengeksport bahan tersebut ke Jepang. Oleh karena itu perlu dicari tanaman lain yang berefek antiinflamasi sebagai pengganti akar *B. falcatum*.

Menurut Skibola dan Smith (2000), selain saponin, kandungan kimia golongan flavonoid juga telah dibuktikan memiliki efek antiinflamasi misalnya apiin dan apigenin yang terkandung dalam seledri. Dengan demikian, flavonoid dapat digunakan sebagai parameter untuk mengetahui efek antiinflamasi, suatu tumbuhan. Selain seledri beberapa tumbuhan famili Umbelliferae telah dilaporkan memiliki efek antiinflamasi seperti adas (Tanira *et al.* 1996) dan pegagan (Shukla *et al.* 1999). Penelitian ini bertujuan untuk mencari tumbuhan famili Umbelliferae lain yang memiliki kandungan saponin serta flavonoid tinggi dan menguji efek antiinflamasinya.

BAHAN DAN METODE

Pengumpulan Bahan. Bahan utama penelitian berupa akar dan biji berbagai tumbuhan famili Umbelliferae yang dikumpulkan pada bulan Mei, ketika curah hujan tidak tinggi. Adas manis (*Anethum graveolens* L.), seledri (*Apium graveolens* L.), pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.), ketumbar

(*Coriandrum sativum* L.), jinten putih (*Cuminum cyminum* L.), wortel (*Daucus carota* L.), adas (*Foeniculum vulgare* L.), petroseli (*Petroselinum vulgare* Hill.) berasal dari Tawangmangu; purwoceng (*Pimpinella alpina* KDS.) dari Dieng; sedangkan akar *Bupleurum falcatum* L. diperoleh dari daerah Sukabumi melalui pemasok perusahaan.

Penetapan Kadar Saponin. Semua bahan tumbuhan berupa akar dan biji dicuci dan dikeringanginkan di bawah sinar matahari tidak langsung selama 4 jam, selanjutnya dioven pada suhu 50 °C. Sebanyak 5 g serbuk bahan dan 25 ml metanol direfluks selama 30 menit. Sari metanolik diperoleh dengan menuang filtrat dari labu. Sisa serbuk direfluks dua kali lagi, setiap kali menggunakan 25 ml metanol (Wagner *et al.* 1984). Sari metanolik diuapkan, kemudian residu direfluks dengan 25 ml petroleum eter 60-80 °C selama 30 menit. Setelah dingin, larutan petroleum eter dibuang, residu yang tertinggal di dalam labu dilarutkan dalam 25 ml etil asetat. Larutan etil asetat dibuang, residu yang tertinggal di dalam labu dilarutkan dalam 25 ml n-butanol sebanyak tiga kali. Seluruh larutan butanolik dicampur dan diuapkan pada tekanan hampa. Residu yang tertinggal di dalam labu dilarutkan dalam 5 ml metanol 90% kemudian larutan ini ditetaskan ke dalam 25 ml dietil eter sambil diaduk. Residu yang terbentuk dalam campuran dituang pada kertas saring yang telah ditimbang. Endapan dicuci dengan 5 ml eter dan dikeringkan sampai bobot tetap sebagai bobot saponin (Rajpal 2002).

Penetapan Kadar Flavonoid. Sebanyak 200 mg serbuk bahan dimasukkan ke dalam labu alas bulat yang berisi 1.0 ml larutan heksametilentetramina 0.5% (b/v), 20 ml aseton, dan 2 ml larutan HCl 25%. Campuran direfluks selama 30 menit. Setelah tidak terlalu panas, campuran disaring menggunakan kertas saring ke dalam labu ukur 100 ml. Sisa serbuk pada kertas saring dimasukkan kembali ke dalam labu alas bulat, ditambah 20 ml aseton, direfluks guna menuntaskan penyarian. Semua filtrat dikumpulkan dalam labu ukur, setelah dingin ditambah aseton sehingga menjadi 100 ml, lalu dikocok rata.

Sebanyak 20 ml filtrat hasil hidrolisis tersebut dimasukkan ke dalam corong pisah dan ditambah 20 ml akuades. Selanjutnya dilakukan ekstraksi kocok, pertama dengan 15 ml etil asetat, kemudian dua kali dengan 10 ml etil asetat. Fraksi etil asetat dikumpulkan dalam labu ukur 50 ml dan ditepatkan sampai tanda dengan penambahan etil asetat. Sebanyak 10 ml larutan fraksi etil asetat hasil hidrolisis dimasukkan ke dalam labu ukur 25 ml, ditambah 1 ml larutan 2 g aluminium klorida dalam 100 ml campuran 5 ml asam asetat glasial dan 95 ml metanol. Campuran asam asetat glasial dan metanol (5:95 v/v) ditambahkan sehingga larutan tepat menjadi 25 ml. Campuran didiamkan selama 30 menit agar reaksi berlangsung sempurna kemudian diukur dengan spektrofotometer UV-vis dengan panjang gelombang maksimum yang terukur. Perhitungan kadar flavonoid menggunakan standar apigenin (Sigma) dengan kurva baku dan nilai kadar terhitung sebagai apigenin (Departemen Kesehatan Republik Indonesia 2000).

Pembuatan Ekstrak Etanolik Biji Seledri dan Akar *B. falcatum*. Sebanyak 50 g serbuk bahan dan 250 ml etanol direfluks selama 30 menit. Sari etanolik diperoleh dengan menuang filtrat dari labu. Sisa serbuk direfluks dua kali lagi, setiap kali menggunakan 250 ml etanol (Wagner *et al.* 1984). Filtrat yang diperoleh diuapkan hingga kental.

Uji Antiinflamasi. Uji antiinflamasi bahan tumbuhan dengan kadar saponin dan flavonoid tertinggi menggunakan 28 ekor tikus putih jantan galur Sprague-Dawley berumur sekitar 2 bulan dengan bobot rata-rata 150-200 g. Tikus dibagi secara acak ke dalam 4 kelompok, diaklimatisasi dan dipuasakan selama 24 jam dengan diberi minum. Perlakuan pada masing-masing kelompok tertera pada Tabel 1.

Semua pemberian bahan dilakukan secara oral. Selanjutnya kaki belakang tikus disuntik subplantar dengan karagenin 1% dan pada mata kakinya diberi tanda. Volume kaki tikus diukur menggunakan pletismometer pada jam ke 1, 2, 3, dan 4 setelah perlakuan.

Analisis Data. Analisis statistik data kadar saponin dan flavonoid dilakukan dengan anova satu arah ($P < 0.01$), dan dilanjutkan dengan uji t. Bahan tumbuhan dengan kadar saponin dan flavonoid tertinggi digunakan sebagai bahan uji untuk percobaan antiinflamasi. Hasil percobaan daya antiinflamasi berbagai kelompok perlakuan pada tikus dianalisis dengan anova satu arah ($P < 0.05$) dan dilanjutkan uji t.

Tabel 1. Kelompok perlakuan tikus pada uji antiinflamasi

Nomor kelompok	Nama kelompok	Perlakuan
I	Kontrol negatif	2 ml larutan polivinil pirolidon (PVP)
II	Bahan uji	2 ml larutan 66 mg ekstrak metanolik biji seledri dalam 10% PVP
III	Bahan pembanding	2 ml larutan 66 mg ekstrak metanolik akar <i>B. falcatum</i> dalam 10% PVP
IV	Kontrol positif	2 ml larutan 8 mg Natrium diklofenak dalam 10% PVP

HASIL

Penetapan Kadar Saponin. Secara umum seluruh bahan uji yang berupa akar dan biji tanaman famili Umbelliferae mengandung saponin (Tabel 2). Kadar saponin yang terkandung dalam masing-masing bahan uji bervariasi mulai dari 0.14 hingga 1.65%. Biji seledri, biji adas, dan akar purwoceng merupakan bahan yang memiliki kandungan saponin relatif tinggi.

Kadar saponin tertinggi terkandung di dalam biji seledri, diikuti oleh akar purwoceng, dan biji adas. Ketiganya memiliki kadar saponin cukup tinggi, walaupun hanya biji seledri yang tidak berbeda nyata dengan akar *B. falcatum* ($P < 0.01$). Hal ini menunjukkan bahwa biji seledri memiliki kadar saponin setara dengan akar *B. falcatum*. Adapun akar purwoceng dan biji adas memiliki kadar saponin yang lebih rendah dibanding akar *B. falcatum* ($P < 0.01$). Berdasarkan data ini, biji seledri menjadi pilihan utama sebagai pengganti akar *B. falcatum* jika memiliki kandungan flavonoid yang tinggi juga sehingga diharapkan memiliki efek antiinflamasi setara dengan efek *B. falcatum*.

Penetapan Kadar Flavonoid. Seluruh bahan yang diuji mengandung flavonoid dengan kadar bervariasi mulai dari 0.22 hingga 1.76% (Tabel 3). Akar *B. falcatum* sebagai pembanding memiliki kadar flavonoid 0.95%.

Kadar flavonoid tertinggi terkandung di dalam biji seledri, biji jinten putih, dan biji petroseli. Ketiga bahan tersebut memiliki kadar flavonoid total lebih besar dan berbeda nyata ($P < 0.01$) dibanding akar *B. falcatum*.

Uji Antiinflamasi. Jika dikaitkan dengan kandungan saponin maka biji seledri memiliki kandungan kimia yang optimal untuk aktivitas antiinflamasi karena memiliki kandungan saponin dan flavonoid yang tinggi. Bahan ini memiliki kadar saponin setara dengan yang terkandung dalam

Tabel 2. Kadar saponin berbagai akar dan biji tumbuhan famili Umbelliferae

Bahan uji	Kadar (%)
Adas manis (<i>Anethum graveolens</i>)	Akar 0.45 ± 0.25a Biji 0.25 ± 0.11a
Seledri (<i>Apium graveolens</i>)	Akar 1.17 ± 0.38a Biji 1.52 ± 0.36b
Pegagan (<i>Centella asiatica</i>)	Akar 0.27 ± 0.22a Biji 0.15 ± 0.08a
Ketumbar (<i>Coriandrum sativum</i>)	Akar 0.35 ± 0.10a Biji 0.24 ± 0.08a
Jinten putih (<i>Cuminum cyminum</i>)	Akar 0.95 ± 0.14a Biji 1.05 ± 0.62a
Wortel (<i>Daucus carota</i>)	Akar 0.15 ± 0.07a Biji 0.14 ± 0.06a
Adas (<i>Foeniculum vulgare</i>)	Akar 1.07 ± 0.20a Biji 1.35 ± 0.32a
Petroseli (<i>Petroselinum vulgare</i>)	Akar 0.95 ± 0.17a Biji 1.06 ± 0.19a
Purwoceng (<i>Pimpinella alpina</i>)	Akar 1.36 ± 0.25a Biji 0.78 ± 0.16a
<i>Bupleurum falcatum</i>	Akar 1.65 ± 0.33b

Huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata dengan *B. falcatum* ($P < 0.01$)

B. falcatum dan memiliki kandungan flavonoid lebih besar daripada *B. falcatum*. Oleh sebab itu biji seledri pada penelitian ini dipilih untuk pengujian selanjutnya. Kadar flavonoid total biji jinten putih juga tinggi, akan tetapi memiliki kadar saponin yang relatif rendah. Hal yang sama dihasilkan dari biji petroseli. Hasil uji antiinflamasi ekstrak biji seledri, ekstrak akar *B. falcatum*, natrium diklofenak sebagai kontrol positif, dibandingkan terhadap efek larutan polivinil pirolidon (PVP) 10% sebagai kontrol negatif (Tabel 4).

Pada jam pertama setelah pemberian bahan uji terjadi pengurangan volume udem kaki tikus secara tajam pada ketiga kelompok perlakuan dibandingkan dengan kontrol negatif dan berbeda nyata pada $P < 0.05$. Daya antiinflamasi ini masih berlangsung tinggi pada kelompok kontrol positif yaitu natrium diklofenak hingga jam ke-4, sedangkan pada kelompok perlakuan dengan ekstrak biji seledri dan akar *B. falcatum* daya antiinflamasinya menurun hingga kurang lebih separuhnya dan terus berlangsung hingga jam ke-4.

PEMBAHASAN

Ekstrak etanolik biji seledri dan akar *B. falcatum* memiliki daya antiinflamasi setara pada jam pertama setelah perlakuan. Akan tetapi efek ekstrak biji seledri dan akar *B. falcatum* menurun hingga hanya separuh daya antiinflamasi natrium diklofenak mulai jam ke-2 hingga jam ke-4 dan belum ada tanda untuk lebih menurun lagi. Data ini sesuai dengan kenyataan

yang secara umum ditemukan di masyarakat bahwa efek bahan obat alami cenderung lebih lemah tetapi lebih lama dibanding bahan obat sintetis yang pada umumnya lebih tajam tetapi lebih cepat hilang efeknya (Cupp 2000).

Pada uji statistik terdapat perbedaan bermakna ($P < 0.05$) antara efek biji seledri dan efek natrium diklofenak pada jam ke-2 dan seterusnya. Demikian pula antara akar *B. falcatum* dengan natrium diklofenak, tetapi tidak ada perbedaan bermakna ($P < 0.05$) antara biji seledri dan akar *B. falcatum*. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa biji seledri memiliki efek antiinflamasi setara dengan *B. falcatum*, sehingga dapat diprogramkan sebagai pengganti tanaman introduksi tersebut. Ditinjau dari bagian tanaman yang digunakan, biji lebih menguntungkan dibanding akar karena tidak perlu mencabut seluruh tanaman sehingga lebih ramah lingkungan dan lebih ekonomis. Selain itu penggunaan akar memiliki kelemahan yaitu adanya kemungkinan tingginya kandungan logam berat sehingga akan memberatkan kerja ginjal jika tidak tepat pengolahannya (Kabelitz 1998). Demikian pula dari sudut kandungan kimia, seledri lebih banyak mengandung flavonoid dibanding akar *B. falcatum*, walaupun kandungan saponinnya sedikit lebih rendah. Hal ini lebih menguntungkan dari segi keamanan karena flavonoid jarang sekali menimbulkan efek samping dibanding saponin (Rawlins 1988; Fugh-Berman 2000). Selain itu flavonoid juga memiliki efek antioksidan yang dapat mendukung efek antiinflamasi seperti polifenol lain yang terdapat pada kunyit dan temulawak yaitu kurkumin (Masuda 1993; Ishige *et al.* 2001). Mekanisme antioksidatif flavonoid dilaporkan melalui aktivitasnya sebagai penangkap radikal bebas (Liu & Ng 2000).

Pada perkembangan terakhir, ternyata perusahaan yang menggunakan jasa metode eksplorasi ini mulai mengalami hambatan pasokan biji seledri karena harus bersaing dengan pengusaha bibit pertanian yang banyak menggunakan biji sebagai bibit tanaman seledri. Oleh sebab itu penelitian eksplorasi ini akan diteruskan dengan mencari alternatif sumber saponin dan flavonoid dari tumbuhan famili Umbelliferae lain. Tanaman tersebut antara lain seledri jepang (*Cryptotaenia canadensis* DC.), walangan/ketumbar jawa (*Eryngium foetidum* L.), semanggi (*Hydrocotyle sibthorpioides* Lam.), pampang alas (*Oenanthe javanica* DC.) (Ochse & van den Brink 1977), mungsi (*Carum copticum* Benth.), pletikapu (*Carum roxburghianum* Benth.), ganti (*Ligusticum acutilobum* Sieb. & Zucc.) (Heyne 1987). Pada saat ini beberapa belum ditemukan baik tanaman maupun simplisianya.

Jika metode eksplorasi ini dapat dikembangkan untuk famili tumbuhan yang lain dengan jenis kandungan kimia dan aktivitas biologi yang lain, efisiensi eksplorasi tumbuhan obat

Tabel 3. Kadar flavonoid total berbagai akar dan biji tumbuhan famili Umbelliferae

Bahan uji		Kadar (%)
Adas manis (<i>Anethum graveolens</i>)	Akar	$0.56 \pm 0.08a$
	Biji	$0.85 \pm 0.16a$
Seledri (<i>Apium graveolens</i>)	Akar	$0.91 \pm 0.10b$
	Biji	$1.76 \pm 0.16c$
Pegagan (<i>Centella asiatica</i>)	Akar	$0.37 \pm 0.06a$
	Biji	$0.42 \pm 0.07a$
Ketumbar (<i>Coriandrum sativum</i>)	Akar	$0.35 \pm 0.05a$
	Biji	$0.44 \pm 0.05a$
Jinten putih (<i>Cuminum cyminum</i>)	Akar	$0.92 \pm 0.08b$
	Biji	$1.05 \pm 0.09c$
Wortel (<i>Daucus carota</i>)	Akar	$0.25 \pm 0.04a$
	Biji	$0.22 \pm 0.05a$
Adas (<i>Foeniculum vulgare</i>)	Akar	$0.88 \pm 0.20a$
	Biji	$0.95 \pm 0.12b$
Petroseli (<i>Petroselinum vulgare</i>)	Akar	$0.85 \pm 0.07a$
	Biji	$1.05 \pm 0.19c$
Purwoceng (<i>Pimpinella alpina</i>)	Akar	$0.56 \pm 0.05a$
	Biji	$0.78 \pm 0.06a$
<i>Bupleurum falcatum</i>	Akar	$0.95 \pm 0.13b$

Huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata terhadap *B. falcatum* ($P < 0.01$)

Tabel 4. Daya anti inflamasi (%) ekstrak etanolik biji seledri, akar *Bupleurum falcatum*, dan kontrol positif natrium diklofenak

Bahan uji	Jam ke-			
	1	2	3	4
Larutan PVP 10% (Kontrol negatif)	0	0	0	0
Biji seledri (<i>A. graveolens</i>)	$42.05 \pm 12.51a$	$29.36 \pm 13.56b$	$27.55 \pm 14.52b$	$28.25 \pm 16.04b$
Akar <i>B. falcatum</i>	$45.34 \pm 14.32a$	$30.37 \pm 13.87b$	$28.76 \pm 13.64b$	$28.88 \pm 15.79b$
Natrium diklofenak (Kontrol positif)	$40.34 \pm 24.20a$	$51.76 \pm 15.07a$	$58.86 \pm 13.24a$	$54.64 \pm 17.55a$

Huruf yang berbeda pada kolom yang sama berbeda nyata ($P < 0.05$) dengan Natrium diklofenak

Indonesia akan lebih terjamin sehingga lebih dekat dengan kepentingan industri sekaligus memacu penanaman tumbuhan yang masih liar. Beberapa jenis kandungan kimia yang saat ini menarik untuk dieksplorasi antara lain flavonoid untuk anti hipertensi dan penurun asam urat, polifenol untuk imunostimulan, senyawa dengan α, β -unsaturated carbonyl untuk sitotoksik dan anti kanker, kombinasi senyawa ester dan flavonoid untuk tabir surya, dan masih banyak kandungan kimia lain yang perlu dieksplorasi. Kerja sama antara para ahli biologi dan farmasi sangat diperlukan.

DAFTAR PUSTAKA

- Abe H. 1980. Pharmacological actions of saikosaponins isolated from *Bupleurum falcatum*. 1. Effects of saikosaponin on liver function. *Planta Medica* 40:366-372.
- Cupp MJ. 2000. *Toxicology and Clinical Pharmacology of Herbal Products*. New York: Humana Pr.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan.
- Fugh-Berman A. 2000. Herb-drug interaction. *Lancet* 355:134-138.
- Heyne K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*. Jakarta: Yayasan Sarana Wana Jaya.
- Ishige K, Schubert D, Sagara Y. 2001. Flavonoids protect neuronal cells from oxidative stress by three distinct mechanisms. *Free Radical Biol Med* 30:433-446.
- Kabelitz L. 1998. Heavy metals in herbal drugs. *Euro J Herb Med* 4:1-9.
- Liu F, Ng TB. 2000. Antioxidative and free radical scavenging activities of selected medicinal herbs. *Life Sci* 66:725-735.
- Masuda T. 1993. Antioxidative and antiinflammatory curcumin related phenolics from rhizomes of *Curcuma domestica*. *Phytochemistry* 32:1557-1560.
- Ochse JJ, van den Brink RCB. 1977. *Vegetables of the Dutch East Indies*. Amsterdam: A. Asher & Co.
- Rajpal V. 2002. *Standardization of Botanicals, Testing and Extraction Methods of Medicinal Herbs*. Volume 1. New Delhi: Eastern Publ.
- Rawlins MD. 1988. Spontaneous reporting of adverse drug reactions. *Br J Clin Pharmacol* 26:1-11.
- Shukla A, Rasik AM, Dhawan BN. 1999. Asiaticosides-induced elevation of antioxidant levels in healing wound. *Phytother Res* 13:50-53.
- Skibola CF, Smith MT. 2000. Potential health impacts of excessive flavonoid intake. *Free Rad Biol Med* 29:375-383.
- Tanira MOM, Shah AH, Mohsin A, Ageel AM, Qureshi S. 1996. Pharmacological and toxicological investigations on *Foeniculum vulgare* dried fruit extract in experimental animals. *Phytother Res* 10:33-36.
- Wagner H, Bladt S, Zgainski EM. 1984. *Plant Drugs Analysis, A Thin Layer Chromatography Atlas*. Berlin: Springer Verlag.